



MINISTERIO
DE INDUSTRIA, TURISMO
Y COMERCIO

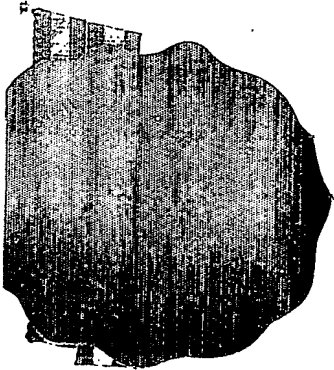


Oficina Española
de Patentes y Marcas

CERTIFICADO OFICIAL

Por la presente certifico que los documentos adjuntos son copia exacta de la solicitud de PATENTE de INVENCION número 200301456, que tiene fecha de presentación en este Organismo el 20 de Junio de 2003.

Madrid, 1 de Julio de 2004



El Director del Departamento de Patentes
e Información Tecnológica.

P.D.

M^a DEL MAR BIARGE MARTÍNEZ

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



MINISTERIO
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA



Oficina Española
de Patentes y Marcas

INSTANCIA DE SOLICITUD

NUMERO DE SOLICITUD

P200301456

(1) MODALIDAD:

☒ PATENTE DE INVENCION

☐ MODELO DE UTILIDAD

(2) TIPO DE SOLICITUD:

☐ ADICION A LA PATENTE

☐ SOLICITUD DIVISIONAL

☐ CAMBIO DE MODALIDAD

☐ TRANSFORMACION SOLICITUD PATENTE EUROPEA

☐ PCT: ENTRADA FASE NACIONAL

(3) EXP. PRINCIPAL O DE ORIGEN:

MODALIDAD

Nº SOLICITUD

FECHA SOLICITUD

03 JUN 20 12:18
FECHA Y HORA DE PRESENTACION EN LA O.E.P.M.

FECHA Y HORA PRESENTACION EN LUGAR DISTINTO O.E.P.M.

(4) LUGAR DE PRESENTACION:

MADRID

CODIGO

28

(5) SOLICITANTE (S): APELLIDOS O DENOMINACION SOCIAL

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

NOMBRE

NACIONALIDAD

Española

CODIGO PAIS

ES

DNI/CIF

Q1518001A

CNAE

803

PYME

4

(6) DATOS DEL PRIMER SOLICITANTE:

DOMICILIO Edificio CACTUS - CITT - Campus sur

LOCALIDAD Santiago de Compostela

PROVINCIA A Coruña

PAIS RESIDENCIA ES

NACIONALIDAD Española

TELÉFONO 981 547050

FAX 981 547077

CORREO ELECTRÓNICO citfci@usc.es

CODIGO POSTAL 15782

CODIGO PAIS ES

CODIGO PAIS ES

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Dpto. SECRETARIA GENERAL
REPROGRAFIA
Panamá, 1 - Madrid 28071

(7) INVENTOR (ES):

APELLIDOS

NOMBRE

NACIONALIDAD

CODIGO

Alonso Fernández

Fuente Freire

Seijo Rey

María José

María de la

María Begoña

Española

Española

Española

PAIS

ES

ES

ES

(8)

☐ EL SOLICITANTE ES EL INVENTOR

☒ EL SOLICITANTE NO ES EL INVENTOR O ÚNICO INVENTOR

(9) MODO DE OBTENCION DEL DERECHO:

☒ INVENC. LABORAL

☐ CONTRATO

☐ SUCESION

(10) TITULO DE LA INVENCION:

Nanopartículas de ácido hialurónico.

(11) EFECTUADO DEPÓSITO DE MATERIA BIOLÓGICA:

☐ SI

☐ NO

(12) EXPOSICIONES OFICIALES: LUGAR

FECHA

(13) DECLARACIONES DE PRIORIDAD:

PAIS DE ORIGEN

CODIGO
PAIS

NUMERO

FECHA

(14) EL SOLICITANTE SE ACOGE AL APLAZAMIENTO DE PAGO DE TASAS PREVISTO EN EL ART. 162. LEY 11/86 DE PATENTES

☐

(15) AGENTE /REPRESENTANTE: NOMBRE Y DIRECCION POSTAL COMPLETA. (SI AGENTE P.I., NOMBRE Y CODIGO) (RELLENASE, ÚNICAMENTE POR PROFESIONALES)

(16) RELACION DE DOCUMENTOS QUE SE ACOMPAÑAN:

☒ DESCRIPCION Nº DE PAGINAS: 23

☒ Nº DE REIVINDICACIONES: 24

☒ DIBUJOS. Nº DE PAGINAS: 6

☐ LISTA DE SECUENCIAS Nº DE PAGINAS:

☒ RESUMEN

☐ DOCUMENTO DE PRIORIDAD

☐ TRADUCCION DEL DOCUMENTO DE PRIORIDAD

☐ DOCUMENTO DE REPRESENTACION

☐ JUSTIFICANTE DEL PAGO DE TASA DE SOLICITUD

☐ HOJA DE INFORMACION COMPLEMENTARIA

☐ PRUEBAS DE LOS DIBUJOS

☐ CUESTIONARIO DE PROSPECCION

☐ OTROS:

FIRMA DEL SOLICITANTE O REPRESENTANTE

(VER COMUNICACION)

FIRMA DEL FUNCIONARIO

NOTIFICACION SOBRE LA TASA DE CONCESION:

Se le notifica que esta solicitud se considerará retirada si no procede al pago de la tasa de concesión; para el pago de esta tasa dispone de tres meses a contar desde la publicación del anuncio de la concesión en el BOPI, más los diez días que establece el art. 81 del R.D. 2245/1986.

ILMO. SR. DIRECTOR DE LA OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

Informacion@oepm.es

www.oepm.es

C/ PANAMÁ, 1 • 28071 MADRID

MOD. 3101 - 1 - EJEMPLAR PARA EL EXPEDIENTE

NO CUMPLIMENTAR LOS RECUADROS ENMARCADOS EN ROJO



MINISTERIO
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA

PROTECCIÓN DE DISEÑOS INDUSTRIALES



Oficina Española
de Patentes y Marcas

NÚMERO DE SOLICITUD

P200301456

FECHA DE PRESENTACIÓN

RESUMEN Y GRÁFICO

RESUMEN Máx. 150 palabras

Nanopartículas de ácido hialurónico para la administración de al menos un ingrediente activo, que comprenden ácido hialurónico en forma de sal, un polímero cargado positivamente, una sal polianiónica y al menos un ingrediente activo. Un procedimiento para la obtención de dichas nanopartículas que comprende las etapas de preparar una disolución acuosa de una sal de ácido hialurónico, preparar una disolución acuosa de un polímero catiónico, adicionar una sal polianiónica a la disolución de la sal de ácido hialurónico, mezclar bajo agitación las disoluciones anteriores, obteniéndose espontáneamente las nanopartículas, siendo disuelto el ingrediente activo en una de las disoluciones iniciales o en la suspensión de nanopartículas obtenidas para ser adsorbido sobre las nanopartículas.

GRÁFICO

(VER INFORMACIÓN)



12

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

2	NÚMERO DE SOLICITUD
2	FECHA DE PRESENTACIÓN
62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISORIA

3 NÚMERO

DATOS DE PRIORIDAD

32 FECHA

33 PAÍS

71 SOLICITANTE (S)

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

DOMICILIO Edificio CACTUS-CITT-Campus Sur
15782 SANTIAGO DE COMPOSTELA

NACIONALIDAD Española

72 INVENTOR (ES) María José Alonso Fernández; María de la Fuente Freire; María Begoña Seijo Rey

5 Int. Cl.

GRÁFICO (SÓLO PARA INTERPRETAR RESUMEN)

54 TÍTULO DE LA INVENCION

Nanopartículas de ácido hialurónico

5 RESUMEN

Nanopartículas de ácido hialurónico para la administración de al menos un ingrediente activo, que comprenden ácido hialurónico en forma de sal, un polímero cargado positivamente, una sal polianiónica y al menos un ingrediente activo. Un procedimiento para la obtención de dichas nanopartículas que comprende las etapas de preparar una disolución acuosa de una sal de ácido hialurónico, preparar una disolución acuosa de un polímero catiónico, adicionar una sal polianiónica a la disolución de la sal de ácido hialurónico, mezclar bajo agitación las disoluciones anteriores, obteniéndose espontáneamente las nanopartículas, siendo disuelto el ingrediente activo en una de las disoluciones iniciales o en la suspensión de nanopartículas obtenidas para ser adsorbido sobre las nanopartículas.

NANOPARTÍCULAS DE ÁCIDO HIALURÓNICO

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al desarrollo de un
5 sistema nanoparticular para la administración de macromoléculas
activas, tanto de carácter hidrofílico o hidrofóbico, una
composición que comprende las mismas y un procedimiento para su
elaboración. Estas nanopartículas comprenden ácido hialurónico
en forma de sal, preferentemente la sal sódica de dicho
10 polímero, y un polímero cargado positivamente, preferentemente
quitosano. Se incorpora a la formulación una sal polianiónica, de
manera preferida seleccionada de entre el grupo de los fosfatos.
Estas nanopartículas pueden ser utilizadas para la
administración de ingredientes activos por diferentes vías al
15 organismo. Los ingredientes activos pueden ser moléculas con
propiedades terapéuticas, vacunas o ingredientes cosméticos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La administración de principios activos presenta numerosas
20 dificultades, dependientes tanto de la vía de administración
utilizada como de las características fisicoquímicas y
morfológicas de las moléculas. Es conocido que los mayores
inconvenientes se presentan a la hora de administrar moléculas
activas inestables, hidrofílicas y de gran tamaño. Por una
25 parte, el acceso de las macromoléculas hidrofílicas al interior
del organismo se ve limitado por la baja permeabilidad que
presentan las barreras biológicas. Asimismo, éstas son
susceptibles de ser degradadas debido a los diferentes
mecanismos de defensa que presentan tanto el organismo humano
30 como animal. Estas dificultades han de ser solventadas para
conseguir el acceso de la molécula activa a la diana terapéutica
y, así, una terapia efectiva.

Ha sido demostrado que la incorporación de macromoléculas en sistemas de tamaño nanométrico facilita su penetración a través de las barreras epiteliales y las protege de ser degradadas. Así pues, el diseño de sistemas nanoparticulares capaces de interaccionar con dichas barreras se presenta como una estrategia prometedora para conseguir la penetración de principios activos a través de mucosas.

Es también conocido que la capacidad de estos sistemas para atravesar las barreras externas y acceder al interior del organismo depende tanto de su tamaño como de su composición. Partículas de pequeño tamaño aumentarán el grado de transporte respecto a las de un mayor tamaño; las nanopartículas, de diámetro inferior a 1 μm , responden a este criterio. Si se elaboran a partir de polímeros de origen natural, biocompatibles y biodegradables, incrementan las posibilidades de que éstas sean transportadas a través de las mucosas del organismo de forma natural, mediante mecanismos de transporte conocidos y sin alterar la fisiología de los epitelios. Otra característica de los sistemas nanoparticulares es que permiten la liberación controlada de las moléculas activas que incorporan y su orientación hacia los tejidos diana.

El ácido hialurónico es un polímero de origen natural. Más concretamente, es un glicosaminoglicano presente en la matriz extracelular de tejidos conectivos, como son el subcutáneo y el cartílago, así como en el cuerpo vítreo del globo ocular y en el fluido sinovial de las cavidades articulares. Se trata de un polímero para el cual existen receptores, siendo predominantes CD44 y RHAMM, los cuales se encuentran localizados a nivel de la superficie celular en prácticamente todas las células del organismo, a excepción de los glóbulos rojos. La interacción del ácido hialurónico con estos receptores permite la regulación de determinados procesos fisiológicos como son la movilidad y proliferación celular. Debido a estas propiedades, el ácido hialurónico es utilizado en terapéutica, ya que ejerce un papel importante en procesos como morfogénesis y desarrollo

embrionario, cáncer e inflamación. Además, debido a las citadas propiedades, el ácido hialurónico es utilizado para la promover la cicatrización de epitelios. Prueba de esta actividad biológica son numerosos trabajos en los que se incluye al ácido hialurónico como biomolécula activa, pudiendo mencionar los descritos por Sand et al., Acta Ophthalmol. 67, 1989, 181-183, donde se aplica ácido hialurónico en el tratamiento de keratoconjuntivitis sicca y Nishida et al., Exp. Eye Res. 53, 1991, 753-758, donde se aplica como agente cicatrizante a nivel corneal.

El ácido hialurónico y sus derivados, bajo diferentes formas de presentación, han sido objeto de numerosas patentes. En algunos de estos documentos el ácido hialurónico se presenta como molécula activa y en otras como biomaterial -excipiente- empleado en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos. Su interés en esta línea se debe a que es un polímero biodegradable, biocompatible, no inmunogénico y que presenta propiedades mucoadhesivas.

De entre las patentes en las que se cita el ácido hialurónico como ejemplo de molécula activa cabe destacar los siguientes:

El documento WO9606622 reivindica la utilización de ácido hialurónico y derivados, solo o en combinación con otro agente terapéutico, para modular la actividad celular de aquellos tejidos y células que en su superficie expresan receptores para el ácido hialurónico, y así tratar o prevenir procesos inflamatorios, fibrosis, o oncogénesis.

La patente US6383478, protege un sistema de liberación consistente en micropartículas, nanopartícula o films en los que se incorpora el ácido hialurónico como posible molécula activa para promover la angiogénesis. El film polimérico o el vehículo particular están formados por al menos dos polímeros aniónicos (entre los que no figura el ácido hialurónico), un polímero

catiónico (entre los que no figura ni el quitosano ni la gelatina ni el colágeno) y un catión de bajo peso molecular.

5 El documento WO0101964 se refiere a la formación de un complejo iónico, entre polímeros hidrofílicos de cargas opuestas, que posteriormente será precipitado dando lugar a la formación de partículas, en un rango de tamaño entre 5nm-1mm. El polímero catiónico puede ser un polímero con carga positiva, como por ejemplo el quitosano. Como polímeros aniónicos se mencionan sulfato de dextrano y otros. La precipitación tiene lugar al producirse la desolvatación del complejo, mediante la adición de agentes desolvatantes, en este caso sulfato de zinc. Estos complejos particulados incorporan una biomolécula que previamente es complejada con uno de los polímeros hidrofílicos que forman parte del vehículo. El ácido hialurónico puede ser una de las biomoléculas incorporadas, ya que la descripción incluye el uso de polisacáridos. Por tanto, se trata de un sistema en el que la molécula activa (ácido hialurónico) es complejada con un polímero catiónico (por ejemplo el quitosano) y este complejo se hace interaccionar con otro polímero aniónico (sulfato de dextrano) y el conjunto se precipita por adición de sulfato de zinc.

25 El documento WO9704747 describe la obtención de nanopartículas a partir de polímeros principalmente hidrofóbicos, estando dichas nanopartículas recubiertas por un agente adhesivo. Como ejemplo de molécula activa se cita a un polisacárido, que podría ser el ácido hialurónico, aunque no se menciona explícitamente. Aunque dicha patente señala el quitosano como posible material para formar las nanopartículas, todos los ejemplos se refieren a la utilización de polímeros hidrofóbicos, siendo necesarios disolventes orgánicos para formar las nanopartículas.

30 El grupo de patentes en las que el ácido hialurónico es empleado como excipiente para el desarrollo de sistemas de liberación de principios activos, es también muy amplio. Dichos

sistemas pueden presentarse en forma de simples complejos, hidrogeles, microsferas y nanopartículas.

Entre los numerosos sistemas que incorporan ácido hialurónico o derivados del mismo en su composición, cabe
5 destacar los documentos siguientes:

El documento EP0544259 se refiere a la obtención de un complejo de ácido hialurónico con un material de elevado peso molecular con grupos amino como puede ser el quitosano. Este complejo se presenta en diferentes formas adoptando la del
10 recipiente en que es obtenido.

En el documento WO0182724 se reivindica una composición que es un simple complejo particulado formado un aminopolisacárido cargado positivamente, pudiendo este ser quitosano, y un polisacárido dotado de carga negativa, mencionando el ácido
15 hialurónico. Este complejo particulado se forma según un proceso de precipitación no controlada. Es decir, no se hace uso de ningún agente reticulante que permita controlar la formación de las partículas, por lo que las partículas resultantes son normalmente irregulares y altamente dispersas.

Además, existen una serie de patentes que protegen la obtención de hidrogeles con arreglo a diferentes procedimientos y composiciones. Entre estas cabe destacar:

US4582865 protege la obtención de hidrogeles de ácido hialurónico o derivados, sólo o en combinación con otros
25 polímeros hidrofílicos como celulosa, colágeno, xantano, carboximetilcelulosa, etc., obtenidos al hacerlos reaccionar con una divinilsulfona

WO0128602 describe la obtención de una formulación inyectable, en forma de gel o pasta, para la liberación de
30 proteínas osteogénicas que comprende derivados benciléster de ácido hialurónico, una proteína osteogénica y trifosfato cálcico como componente mineral.

El documento WO9009401 se refiere a hidrogeles de ácido hialurónico o derivados, obtenidos por reticulación del polímero

tras hacerlo reaccionar con un derivado de ácido fosfórico, donde se establecen puentes de unión éster fosfato. Estos hidrogeles resultan útiles para su aplicación como implantes depósito de principios activo, en forma de films, tubos, etc.

5 El documento WO0230990 describe la producción de un derivado amida reticulado del ácido hialurónico, basado en una reacción de éste con un polímero catiónico con dos o más grupos amino (entre los cuales se encuentra el quitosano). Para llevar a cabo esta reacción química se necesita de un agente activador
10 de grupos carboxílicos, utilizando una carbodiimida. Este derivado amida del ácido hialurónico se puede presentar en forma de geles, membranas, beads..

Asimismo, existen una serie de documentos que hacen referencia a la obtención de **partículas** (**micropartículas** o
15 **nanopartículas**) en cuya composición entra el ácido hialurónico. Conviene hacer la distinción entre las microsferas o micropartículas cuyo tamaño de partícula está entre 1-100µm y las nanosferas o nanopartículas cuyo tamaño es inferior a una micra. Aunque existen patentes que reivindican intervalos de
20 tamaño de partícula muy amplios (desde nano a micro), lo cierto es que muchas de las tecnologías aplicables a la obtención de micropartículas no permiten la formación de nanopartículas.

Así, la patente WO 89/03207 y el artículo de Benedetti et al., Journal of Controlled Release 13, 33-41 (1990) presentan la
25 obtención de microsferas de ácido hialurónico según el método de evaporación del disolvente. Más recientemente, el documento US6066340 se refiere a la posibilidad de obtener dichas microsferas haciendo uso de técnicas de extracción del disolvente. No obstante, dichos documentos no mencionan la
30 obtención de nanopartículas ya que no es posible conseguir la formación de nanopartículas según las técnicas referidas en los mismos.

Además, se ha propuesto la combinación de ácido hialurónico y quitosano en un sistema microparticulado a fin de

combinar el efecto mucoadhesivo del ácido hialurónico con el efecto promotor de la absorción del quitosano. El valor de esta combinación microparticulada se refleja en los trabajos de Lim et al., *J. Controll. Rel.* 66, 2000, 281-292 y Lim et al., *Int. J. Pharm.* 23, 2002, 73-82. Al igual que en el documento precedente, estas micropartículas han sido preparadas por la técnica de emulsión-evaporación del solvente.

El documento US2001053359 propone la combinación, para administración nasal, de un antiviral y un material bioadhesivo, presentándose en forma una solución o bien de microsferas compuestas de diferentes materiales, entre ellos gelatina, quitosano o ácido hialurónico, pero no sus mezclas. Las micropartículas son obtenidas por técnicas clásicas como la atomización y emulsión/evaporación del disolvente. Una vez obtenidas, las micropartículas son endurecidas por procedimientos convencionales de reticulación química (dialdehidos y dicetonas).

El documento US2002197328 se refiere igualmente a micropartículas, preparadas a partir del ácido hialurónico, por atomización. La diferencia con respecto a las anteriores es que se protegen las micropartículas de ácido hialurónico de alto peso molecular (superior a 1,000,000 daltons). Aunque en las reivindicaciones se señala la obtención de partículas de tamaño inferior a 1 micra, lo cierto es el que procedimiento de atomización con el que se obtienen las partículas referidas, no permite la obtención de nanopartículas.

Más recientemente, el documento US20030026844 ha ido encaminado a proteger partículas porosas, con un tamaño entre 10nm-500µm, que presentan grupos iónicos funcionales en su superficie. Estas partículas están constituidas por uno o más biopolímeros (entre los cuales se encuentran determinados polisacáridos como ácido hialurónico, quitosano). Según este documento, los grupos iónicos se consiguen gracias a la incorporación imprescindible de agentes tensoactivos ionizables. Para la formación de estas partículas describen diferentes

métodos, como extracción o evaporación del solvente, atomización, coacervación y uso de fluidos supercríticos. A pesar de que en las reivindicaciones se señala la obtención de partículas de tamaño inferior a 1 micra, lo cierto es el que los procedimientos descritos en dicho documento no permiten la obtención de nanopartículas.

El documento WO-A-99/47130 se refiere a nanopartículas que presentan un complejo polielectrolítico, a partir de un polication (que puede ser quitosano) y un polianión, así como al menos un ingrediente bioactivo, siendo las nanopartículas obtenibles tratando adicionalmente el complejo de polielectrolito durante o después de su formación con al menos un agente reticulante (glioxal, TSTU o EDAP). Como polianión se indica el sulfato de polixilano.

El documento US6132750 se refiere a la obtención de partículas de pequeño tamaño (micro y nanopartículas) que en su superficie contienen al menos una proteína (colágeno, gelatina) y un polisacárido (quitosano o glicosaminoglicanos, entre otros). Se forman por reticulación interfacial con un agente acilante polifuncional que forma enlaces amida o éster, y opcionalmente enlaces anhídridos. Se pretende que en su superficie queden grupos libres capaces de reaccionar con iones metálicos.

El documento WO9918934 se refiere a un nanopartículas que constan de un núcleo formado por un polímero cargado positiva o negativamente y una cubierta formada por la combinación de ambos. Durante la producción de las mismas necesitan la aplicación de ultrasonidos. La estabilización de las partículas se realiza por reacción de las mismas con un agente reticulante (un polialdehído de dextrano, un polímero fotoreticulante o una glutamil transferasa).

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a nanopartículas que comprenden ácido hialurónico en forma de sal, preferentemente la sal sódica de dicho polímero, y un polímero de origen natural cargado positivamente, preferentemente quitosano, de manera que interaccione electrostáticamente con la forma desprotonada del ácido hialurónico. Se incorpora a la formulación una sal polianiónica capaz de reticular iónicamente la molécula catiónica causando su gelificación, de manera preferida seleccionada de entre el grupo de los fosfatos.

Una combinación entre ácido hialurónico y quitosano, en forma nanoparticular, conduce a la obtención de un sistema con elevado potencial en el campo de la terapéutica. Por otra parte, es conocida la posibilidad que existe de obtener complejos iónicos a partir de ambos polímeros, al presentar cargas opuestas. También es conocida la diferencia existente entre complejos y nanopartículas, ya que la ventaja de las nanopartículas con respecto a los complejos es un mayor control en cuanto a su composición y tamaño, así como una mayor estabilidad. Con el objeto de proporcionar estabilidad a los sistemas, se ha procedido a la reticulación de los mismos mediante la adición de sustancias que forman enlaces químicos entre los compuestos.

Debido a todo lo mencionado anteriormente, la presente invención se refiere a la combinación de dos polímeros, ácido hialurónico y quitosano, pudiendo sustituirse el quitosano por otros polímeros de origen natural cargados positivamente, como colágeno o gelatina, para la obtención de un sistema nanoparticular. Asimismo se ha encontrado un procedimiento de elaboración de nanopartículas que da lugar a la formación de las mismas de manera controlada y que prescinde del uso de solventes orgánicos así como de condiciones extremas. Por tanto, se preserva así la integridad de las macromoléculas incorporadas al sistema, susceptibles de ser degradadas. Para lograr la formación de nanopartículas en un rango de tamaños deseado, se recurre a la adición de una sal polianiónica que conducirá a la

gelificación del polímero de carga positiva, simultáneamente con la interacción iónica con el ácido hialurónico. Se trata, por tanto, de un proceso de gelificación/interacción iónica, que ocurre de manera controlada y proporcionará estabilidad al sistema, sin que exista la necesidad de creación de enlaces covalentes entre los componentes. Estas nanopartículas presentarán ventajas respecto a otros sistemas de mayor tamaño (micropartículas, pellets, vedas, films, esponjas...) en cuanto a sus aplicaciones biológicas. De hecho, se sabe que la interacción de un sistema de liberación de fármacos con una superficie biológica está altamente condicionada por su tamaño. Así, las nanopartículas son capaces de atravesar epitelios y mucosas actuando como sistemas de transporte de fármacos, mientras que las micropartículas no tienen esa capacidad. Igualmente, la biodistribución de estos sistemas está altamente condicionado por el tamaño. El conocimiento generado en los últimos años en el mundo de los sistemas coloidales de liberación de fármacos ha permitido fijar una frontera claramente definida entre los sistemas coloidales (inferiores a una micra) y los sistemas microparticulares.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención describe la elaboración de nanopartículas constituidas a partir de una sal del ácido hialurónico y de otro polímero hidrofílico capaz de interaccionar con el mencionado glicosaminoglicano, siendo mediada dicha interacción por una sal polianiónica capaz de reticular el sistema mediante el establecimiento de interacciones electrostáticas. El método de obtención de las partículas es un método sencillo que evita el uso de solventes orgánicos así como de condiciones drásticas. Además, tampoco es necesario llevar a cabo ningún tipo de reacción química para la obtención de las mismas, ya que según se ha indicado el procedimiento de reticulación es iónico.

Según un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para elaborar nanopartículas de ácido hialurónico con un diámetro inferior a $1\mu\text{m}$, que incorporan un ingrediente activo, independientemente de la naturaleza hidrofóbica o hidrofílica del mismo. Este procedimiento comprende las siguientes etapas:

- a) preparar una disolución acuosa de una sal de ácido hialurónico, de forma preferida en una concentración de entre 0,50 y 5 mg/mL;
- 10 b) preparar una disolución acuosa de un polímero catiónico, de forma preferida en una concentración de entre 0,5 y 5 mg/mL;
- c) adicionar una sal polianiónica a la disolución de la sal de ácido hialurónico, de forma preferida en una concentración de 0,25 y 1,00 mg/mL,
- 15 d) mezclar bajo agitación las disoluciones resultantes de las etapas b) y c), obteniéndose espontáneamente las nanopartículas.

El ingrediente activo o los ingredientes activos son disueltos en una de las disoluciones a), b) o c) o bien en la suspensión de nanopartículas obtenida en la etapa d) para ser adsorbido sobre las nanopartículas.

Según un segundo aspecto, la presente invención se refiere a nanopartículas obtenidas según el procedimiento anterior, con unas características determinadas en cuanto a su composición, propiedades y morfología, comprendiendo ácido hialurónico, un polímero cargado positivamente, una sal polianiónica y una macromolécula.

Según un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición farmacéutica o cosmética que comprende las nanopartículas anteriores, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente o cosméticamente aceptables, respectivamente.

Según una realización preferida, la sal del ácido hialurónico es la sal sódica del mismo. De forma preferente, el

polímero cargado positivamente será el quitosano, pudiendo utilizar también colágeno o gelatina.

5 También de forma preferente, la sal polianiónica será seleccionada de entre el grupo de los fosfatos, tomando como modelo el tripolifosfato sódico debido al elevado número de cargas negativas que presenta en su estructura.

10 La formación de las partículas se produce al mezclar volúmenes de las soluciones mencionadas en diferentes proporciones. De este modo, las nanopartículas tendrán una proporción relativa de los diferentes ingredientes ácido hialurónico:polímero positivo:sal aniónica que podrá variar entre 1:0,5:0,1 y 1:10:2, y, de forma preferida, entre 1:1:0,15 y 1:10:1,5.

15 El procedimiento de elaboración de las partículas de ácido hialurónico puede incluir una etapa adicional de liofilización, con el fin de preservarlas durante su almacenamiento para que conserven sus características iniciales. En forma liofilizada, las nanopartículas pueden ser almacenadas durante largos períodos de tiempo, y ser fácilmente regeneradas, en caso necesario, simplemente añadiendo un volumen de agua 20 óptimo. Por otra parte, el grado de reticulación de las nanopartículas aumenta con este proceso, ya que tiene lugar una aproximación entre las cadenas poliméricas, lo que facilita que aumente el grado de entrecruzamiento polimérico, así como que se 25 potencie el efecto del polianión como agente reticulante.

Para la liofilización de las partículas únicamente es necesaria la adición de pequeñas cantidades de azúcares, ya que el ácido hialurónico ejerce un efecto como crioprotector.

30 De acuerdo con esta etapa adicional, la presente invención se refiere también a nanopartículas de ácido hialurónico y un polímero positivo bajo forma de liofilizado, y a una composición farmacéutica o cosmética que las incluya, así como al menos un excipiente farmacéutica o cosméticamente aceptable.

Las nanopartículas aquí descritas presentan una estabilidad adecuada tanto en suspensión como bajo forma de liofilizado, por lo que pueden ser almacenadas durante largos períodos de tiempo. Por otra parte, también ha sido estudiada su estabilidad en 5 determinados fluidos biológicos lo cual garantiza que tras su administración a organismos, humano o animal, permanecerán bajo forma nanoparticulada.

Por otra parte, las nanopartículas que comprenden ácido hialurónico en su composición han demostrado poseer excelentes 10 propiedades de mucoadhesividad debido a su capacidad de interacción con la mucina (proteína presente en el moco), lo cual las convierte en sistemas de gran utilidad como sistemas farmacéuticos y también cosméticos. Pueden ser administradas por diferentes vías, y entre ellas resulta de elevado interés la 15 administración a través de mucosas, así como también su administración por inyección intra-articular.

El ingrediente activo a incorporar en las nanopartículas que comprenden ácido hialurónico será aquel con propiedades farmacoterapéuticas adecuadas de acuerdo con la aplicación 20 terapéutica a la cual sea destinada la formulación. El efecto sobre el organismo humano o animal de las macromoléculas incorporadas tendrá por objeto curar, minimizar o prevenir una enfermedad, tras ser administradas.

Según la presente invención, las nanopartículas de ácido 25 hialurónico y un polímero catiónico, como el quitosano, resultan adecuadas para incorporar macromoléculas independientemente de las características de solubilidad de las mismas. La capacidad de asociación dependerá de la macromolécula incorporada, pero en términos generales resulta elevada tanto para macromoléculas 30 hidrofílicas como para aquellas de marcado carácter hidrofóbico. El ingrediente activo podrá ser un fármaco, una vitamina, una vacuna, etc., o un agente cosmético.

La macromolécula destinada a ser incorporada en las nanopartículas se disolverá previamente en una de las dos

disoluciones acuosas que se emplean en la producción de las mismas. En el caso de macromoléculas de carácter lipofílico, se ha introducido una variante en la técnica de producción según la cual el ingrediente activo es disuelto en primer lugar en un
5 pequeño volumen de una mezcla de agua y un disolvente orgánico miscible con agua, de manera preferida acetonitrilo, de forma preferida en una proporción aproximada de 1:1, el cual seguidamente se adicionará a una de las disoluciones acuosas mencionadas con anterioridad, de forma que la concentración en
10 peso del disolvente orgánico en la disolución final sea siempre menor al 10 %.

Cabe la posibilidad de que las nanopartículas descritas en la presente invención incorporen más de una macromolécula, que podrán estar disueltas en la misma disolución o en ambas por
15 separado, dependiendo esto de la naturaleza de las macromoléculas a incorporar evitando que exista ningún tipo de interacción, bien sea química o física, entre ellas.

Las nanopartículas de ácido hialurónico presentan un diámetro medio inferior a $1\mu\text{m}$, respondiendo por tanto a la
20 definición de nanopartículas, sistema coloidal constituido a base de polímeros con un tamaño inferior a $1\mu\text{m}$. El tamaño de las mismas variará en función de la cantidad de ácido hialurónico que las constituye, así como en función de la cantidad de sal polianiónica que se emplee en la reticulación del sistema, y de
25 la naturaleza del principio activo que incluyen.

La carga superficial de las mismas puede variarse en función de las diferentes proporciones de los polímeros constitutivos de las mismas. Más concretamente, la carga
superficial de las nanopartículas varía en magnitud en función
30 de la cantidad de ácido hialurónico que las constituye, y de la sal polianiónica reticulante. Frecuentemente interesa que la carga superficial tome valores positivos, ya que las superficies biológicas del organismo, y particularmente las mucosas, se encuentran cargadas negativamente. Por tanto, la carga positiva
35 de las nanopartículas favorece su interacción con las mismas y,

como consecuencia, se verá favorecido el que las macromoléculas asociadas al sistema nanoparticular actúen sobre los tejidos diana.

5 La cantidad de ácido hialurónico que se incluye en la formación de estas nanopartículas, por otra parte, se espera que module la liberación de las macromoléculas incorporadas, ya que las nanopartículas son vehículos con los que se pretende liberar sustancias activas a los organismos humano o animal de manera controlada o retardada.

10 A continuación, para una mayor comprensión de las características y ventajas de la presente invención, se hará referencia a una serie de ejemplos que de forma explicativa completan la descripción anterior, sin suponer en modo alguno que ésta se vea limitada a los mismos.

15 EJEMPLOS

Durante la exposición de los siguientes ejemplos se emplearán una serie de abreviaturas:

HANA = Sal sódica del ácido hialurónico.

CS = Quitosano.

20 TPP = Tripolifosfato sódico.

FITC-BSA = Albúmina marcada con fluoresceína.

CsA = Ciclosporina A.

SLF = Fluido lacrimal artificial.

Ejemplo 1

25 Se prepararon nanopartículas de ácido hialurónico en forma de sal sódica, quitosano como polímero catiónico, y tripolifosfato sódico como agente reticulante, según el procedimiento previamente descrito. Se adicionó la disolución de hialuronato y tripolifosfato sódico sobre la disolución de
30 quitosano, bajo agitación magnética, la cual se mantuvo durante media hora, permitiendo la completa evolución del sistema hacia una forma nanoparticular estable. Una vez preparadas, se midió

su diámetro medio, así como su carga eléctrica superficial (potencial zeta) y se calculó el rendimiento de producción (el cual se expresa en porcentaje, y tiene en cuenta el peso de las nanopartículas respecto al peso de los polímeros incorporados).

- 5 En la tabla 1 y Figuras 1,2,3 se muestran los valores que toman los parámetros citados en función de la proporción de HA-Na, Cs y TPP.

B

5

B
B
B
BB
B
B
B

Tabla 1:

HA-Na/CS/TPP (p/p)	Diámetro medio (nm)	Potencial ζ (+mV)	Rendimiento de producción
1/1/0,05	769 \pm 36	+36.09 \pm 0.99	43 \pm 0,5
1/1/0,1	696 \pm 129	+34.50 \pm 0.28	53 \pm 3
1/1/0,15	585 \pm 9	+32.90 \pm 0.42	64 \pm 3
1/1/0,2	782 \pm 36	+31.90 \pm 0.42	75 \pm 1
1/2/0,1	550 \pm 42	+34.95 \pm 1.14	38 \pm 4
1/2/0,2	509 \pm 48	+32.63 \pm 0.68	55 \pm 1
1/2/0,3	584 \pm 26	+32.60 \pm 0.52	87 \pm 8
1/2/0,4	576 \pm 100	+31.66 \pm 0.78	82 \pm 14
1/3/0,15	539 \pm 52	+38.16 \pm 0.57	19 \pm 2
1/3/0,33	442 \pm 53	+32.63 \pm 0.71	40 \pm 3
1/3/0,5	420 \pm 16	+36.76 \pm 0.84	58 \pm 5
1/3/0,66	379 \pm 34	+35.33 \pm 1.93	72 \pm 3
1/10/0,5	634 \pm 55	+46.11 \pm 1.69	6 \pm 2
1/10/1	396 \pm 39	+44.78 \pm 1.55	15 \pm 1
1/10/1,5	312 \pm 29	+42.05 \pm 1.42	21 \pm 6
1/10/2	290 \pm 24	+41.59 \pm 2.22	34 \pm 12

Ejemplo 2

Se prepararon nanopartículas de ácido hialurónico en forma de sal sódica, quitosano como polímero catiónico, y tripolifosfato sódico como agente reticulante, según el procedimiento previamente descrito. Se procedió a la incorporación de una macromolécula hidrofílica en su composición, seleccionando para tal fin FITC-BSA. Se trata de

una macromolécula cargada negativamente en ambas disoluciones debido al pH de las mismas (3 en el caso de la disolución de quitosano, y entre 8-8.5 en el caso de las disoluciones de hialuronato y tripolifosfato), por lo que se incorporó junto al ácido hialurónico para evitar la aparición de interferencias en la formación de las partículas.

Se estableció una carga teórica de un 30% respecto al peso de los polímeros, y una vez preparadas según el procedimiento de la invención se determinó la eficacia de encapsulación (evaluando la proteína libre mediante espectroscopia visible, con $\lambda=494\text{nm}$). También se midió su diámetro medio. El rendimiento de producción fue determinado teniendo en cuenta el peso de los polímeros y de la proteína incorporada. Teniendo en cuenta éste último dato, fue posible determinar la capacidad de carga real de las partículas.

Tabla 2:

HANa/CS/TPP (p/p)	Diámetro medio (nm)	Eficacia de encapsulación FITC-BSA (%)	Rendimiento de producción (%)	Carga en FITC-BSA (%)
1/2/0,4	745±58	99.75±0.06	71±2	33
1/3/0,5	518±30	99.79±0.03	70±3	34
1/10/1,5	321±24	99.10±0.04	36±4	63

Ejemplo 3

Se prepararon nanopartículas de ácido hialurónico en forma de sal sódica, quitosano como polímero catiónico, y tripolifosfato sódico como agente reticulante, según el procedimiento previamente descrito. Se procedió a la incorporación de una macromolécula hidrofóbica, tomando para ello el polipéptido ciclosporina A, agente inmunomodulador prácticamente insoluble en agua, sobre todo a temperaturas

moderadas. El procedimiento de elaboración es el ya descrito en la presente invención, con una modificación, ya que la macromolécula es disuelta previamente en una solución acetónitrilo/agua al 50% (V/V), bajo una concentración de 10mg/mL. Posteriormente, un pequeño volumen de esta disolución, en torno a 200 μ L, es añadido a la solución de quitosano, e inmediatamente después se adiciona la disolución que contiene la sal de ácido hialurónico y el agente reticulante. La encapsulación del fármaco tiene lugar en forma de nanocristales, lo cual justifica que el proceso de adición de la segunda disolución sea rápido evitando que la macromolécula precipite y facilitando que se incorpore a las nanopartículas.

Se establece una carga teórica de CsA del 25% respecto al peso de los polímeros, y una vez preparadas según el procedimiento de la invención se determinó la eficacia de encapsulación (evaluando el polipéptido libre mediante espectroscopia ultravioleta, con $\lambda=200\text{nm}$). También se midió su diámetro medio. El rendimiento de producción fue determinado teniendo en cuenta el peso de los polímeros y del polipéptido incorporado. Teniendo en cuenta éste último dato, fue posible determinar la capacidad de carga real de las partículas.

Tabla 3

HANA/CS/TPP (p/p)	Diámetro medio (nm)	Eficacia de encapsulación (%)	Rendimiento de producción (%)	Capacidad de carga (%)
1/2/0,4	658 \pm 43	99.68 \pm 0.27	83 \pm 5	24
1/3/0,5	536 \pm 88	99.66 \pm 0.25	74 \pm 6	27
1/10/1,5	515 \pm 88	98.93 \pm 0.52	54 \pm 5	37

Se prepararon nanopartículas de ácido hialurónico en forma de sal sódica, quitosano como polímero catiónico, y tripolifosfato sódico como agente reticulante, según el procedimiento previamente descrito. Se realizaron medidas de tamaño de partícula y carga superficial, durante un mes, con el fin de obtener información acerca de la evolución del sistema con el tiempo. Para ello se seleccionaron distintas formulaciones con diferentes cantidades de ácido hialurónico. Las proporciones teóricas HANA/CS/TPP fueron: 1/2/0.4 (◆), 1/2.5/0.25 (●), 1/3/0.5 (■) 1/3/0.66 (—) y 1/10/1.5 (▲). Los resultados presentados en las figuras 4 y 5 muestran la escasa variabilidad de los parámetros, tamaño y potencial zeta, durante el almacenamiento.

15 Ejemplo 5

Se prepararon nanopartículas de ácido hialurónico, quitosano y TPP según la presente invención. Se incorporó una macromolécula hidrofóbica, CsA, de la manera descrita en el ejemplo 3. Posteriormente, se midió el diámetro de las nanopartículas a lo largo de una semana para comprobar la estabilidad del sistema con el tiempo. También se comprobó que el fármaco se encuentra incorporado en las partículas y no precipitado en forma de nanocristales, ya que no se observó ningún tipo de crecimiento cristalino. La carga teórica de CsA se fijó en un porcentaje del 25% respecto a la masa de las nanopartículas. Las proporciones de los polímeros formadores de las partículas y el agente reticulante, HANA/CS/TPP, fueron 1/2/0.4 (◆) y 1/3/0.5 (■).

Ejemplo 6

30 Se prepararon nanopartículas de ácido hialurónico en forma de sal sódica, quitosano como polímero catiónico, y tripolifosfato sódico como agente reticulante, según el procedimiento previamente descrito. Se utilizó una proporción

HANa/CS/TPP de 1/2/0.4, y sobre estas nanopartículas se comprobó el efecto que el tipo de agente crioprotector utilizado en el procedimiento de liofilización tiene sobre el tamaño. Asimismo se evaluó la influencia de la concentración de nanopartículas en la suspensión a liofilizar. Tras ensayos preliminares, como agentes crioprotectores fueron seleccionados dos azúcares, glucosa y trehalosa, y su concentración se mantuvo constante, fijándola en un 5% (p/v).

Ejemplo 7

Las nanopartículas desarrolladas por el método de la presente invención, y liofilizadas en presencia de glucosa al 5%(p/V), fueron incubadas en SLF, el cual posee un pH de 7.4 y una elevada concentración de iones. La formulación seleccionada fue la misma que en el ejemplo anterior. Se realizaron medidas del diámetro medio de las partículas durante 24 horas.

Ejemplo 8

Se prepararon nanopartículas de ácido hialurónico en forma de sal sódica, quitosano como polímero catiónico, y tripolifosfato sódico como agente reticulante, según el procedimiento previamente descrito. La formulación desarrollada fue aquella con una composición HANa/CS/TPP: 1/2/0.4, y fue liofilizada durante 48h utilizando como agente crioprotector glucosa al 5%. Posteriormente, se realizó un estudio de mucoadhesión, utilizando para ello SLF y una solución de mucina al 4%.

El ácido hialurónico es un polímero que presenta un comportamiento viscoelástico en forma de gel. En el caso de suspensiones coloidales el comportamiento reológico resulta más complejo; la viscosidad se ve fuertemente influenciada por las propiedades superficiales de las partículas.

La mucoadhesividad de las nanopartículas fue determinada a partir de las siguientes mezclas, preparadas al 50%: nanopartículas/mucina, nanopartículas/SLF y mucina/SLF. La existencia de sinergismo en cuanto a la primera de las mezclas

respecto al sumatorio de las otras dos, observando los valores del módulo elástico (G') y módulo viscoso (G''), es indicativa de que el sistema presenta propiedades mucoadhesivas. La fórmula matemática utilizada fue:

5

$$G' = G'_{\text{Nanopartículas-Mucina}} + (G'_{\text{Nanopartículas-SLF}} + G'_{\text{Mucina-SLF}})$$

Los resultados de módulo elástico y modulo viscoso aparecen en las figuras 10 y 11.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de nanopartículas para la administración de al menos un ingrediente activo, con un diámetro inferior a μm , caracterizado porque comprende las etapas de:

- a) preparar una disolución acuosa de una sal de ácido hialurónico;
 - b) preparar una disolución acuosa de un polímero catiónico;
 - c) adicionar una sal polianiónica a la disolución de la sal de ácido hialurónico;
 - d) mezclar bajo agitación las disoluciones de las etapas b) y c), obteniéndose espontáneamente las nanopartículas,
- donde el ingrediente activo es disuelto en una de las disoluciones resultantes a), b) o c) o es disuelto en la suspensión de nanopartículas obtenida en la etapa d) para ser adsorbido sobre las nanopartículas.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la disolución de la sal de ácido hialurónico se prepara en una concentración de entre 0,50 y 5 mg/mL.

3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque la disolución de polímero catiónico se prepara en una concentración de entre 0,5 y 5 mg/mL.

4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque la sal aniónica es añadida en una concentración de 0,25 y 1,00 mg/mL.

5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el ingrediente activo es una macromolécula.

6. Procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado porque, en caso de que la macromolécula tenga un

carácter lipofílico, dicha macromolécula es disuelta, antes de incorporarla a una de las disoluciones a) o b), en una mezcla de agua y de un disolvente orgánico miscible con agua, de forma que la concentración del disolvente orgánico en la disolución final sea menor de 10 % en peso:

7. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque el disolvente orgánico es acetonitrilo.

8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7; caracterizado porque la sal de ácido hialurónico es la sal sódica.

9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el polímero catiónico es quitosano.

10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque el polímero catiónico es colágeno o gelatina.

11. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque la sal polianiónica es tripolifosfato sódico.

12. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado la proporción de ácido hialurónico:polímero catiónico:sal polianiónica en la disolución final está entre 1:0,5:0,1 y 1:10:2.

13. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque la proporción de ácido hialurónico:polímero catiónico:sal aniónica está entre 1:1:0,15 y 1:10:1.5.

14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizado porque comprende una etapa adicional e), después de la etapa d), de liofilizar las nanopartículas obtenidas en presencia de cantidades reducidas de azúcares.

15. Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado porque comprende una etapa adicional f), después de la etapa e), de regenerar las nanopartículas liofilizadas.

5 16. Nanopartículas para la administración de un ingrediente activo, obtenibles según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.

10 17. Nanopartículas para la administración de un ingrediente activo, caracterizadas porque comprenden una sal de ácido hialurónico, un polímero catiónico, una sal polianiónica y un ingrediente activo.

18. Nanopartículas según la reivindicación 17, caracterizadas porque el ingrediente activo es una macromolécula.

15 19. Nanopartículas cualquiera de las reivindicaciones 17 y 18, caracterizadas porque la sal de ácido hialurónico es la sal sódica.

20 20. Nanopartículas según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19, caracterizadas porque el polímero catiónico es quitosano.

21. Nanopartículas según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19, caracterizadas porque el polímero catiónico es colágeno o gelatina.

25 22. Nanopartículas según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 21, caracterizadas porque la sal polianiónica es tripolifosfato sódico.

23. Composición farmacéutica o cosmética caracterizada porque comprende nanopartículas según las reivindicaciones 16 a 22.

30 24. Uso de las nanopartículas según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 22 en la preparación de una composición farmacéutica para administración sobre mucosas, tópica o parenteral.

Figura 4:

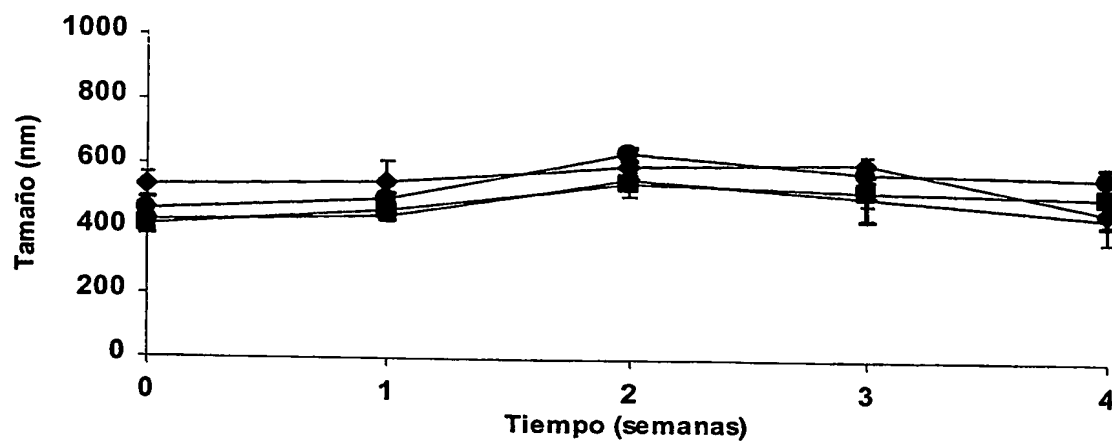


Figura 5:

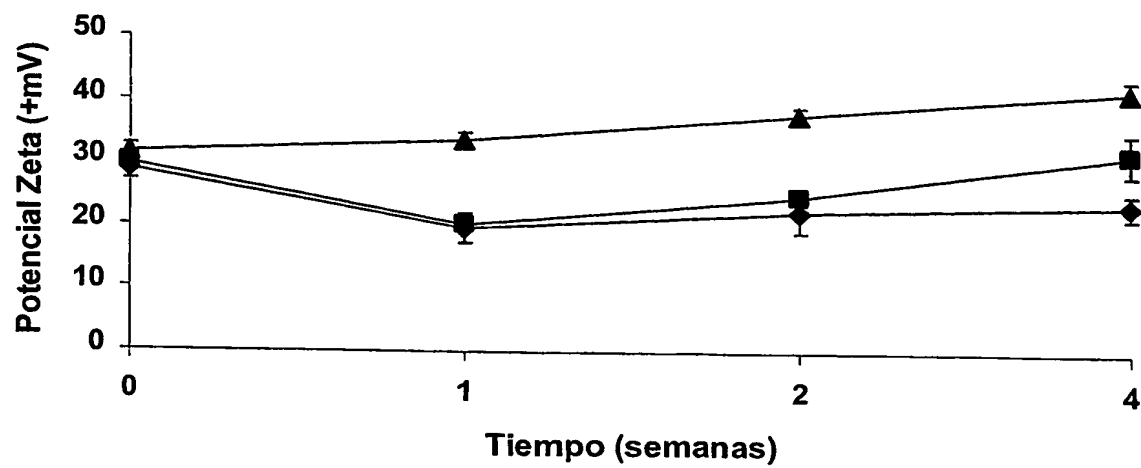


Figura 6:

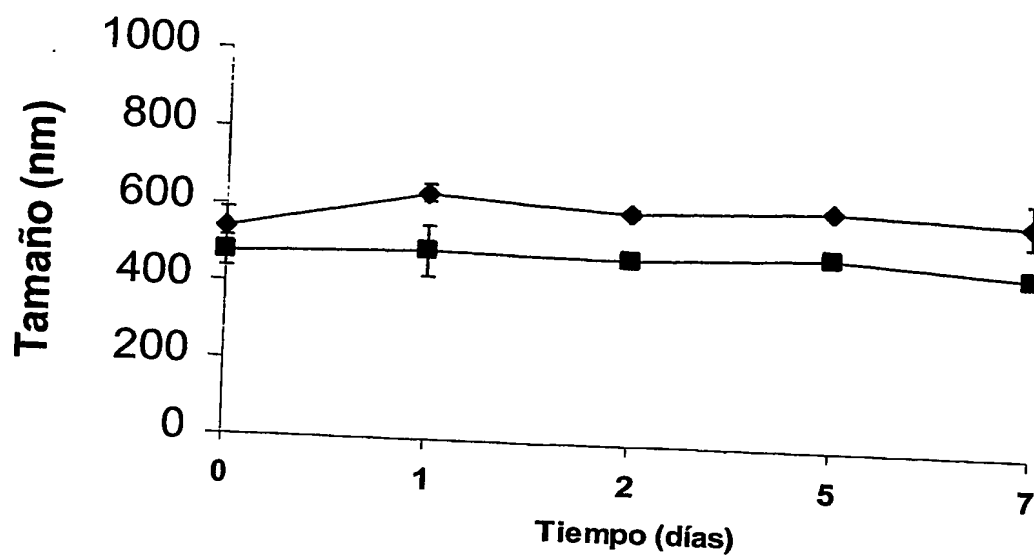


Figura 7:

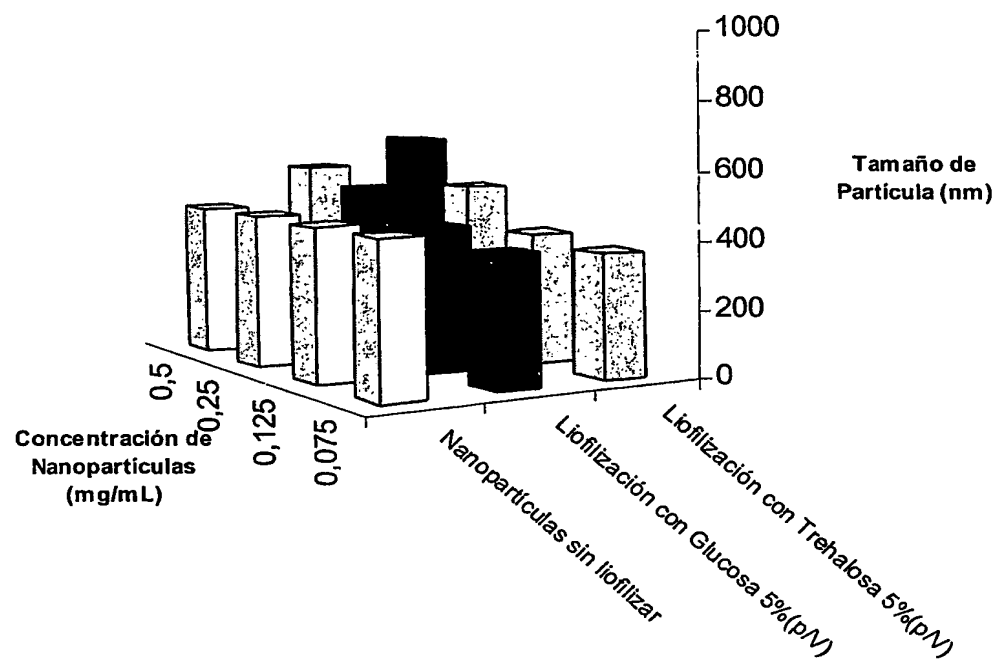


Figura 8:

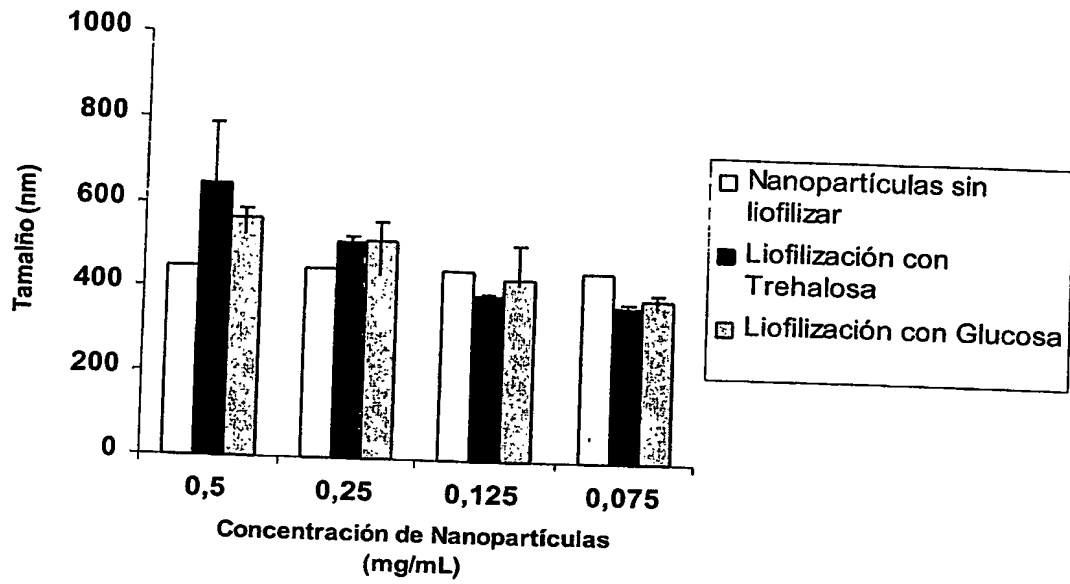


Figura 9:

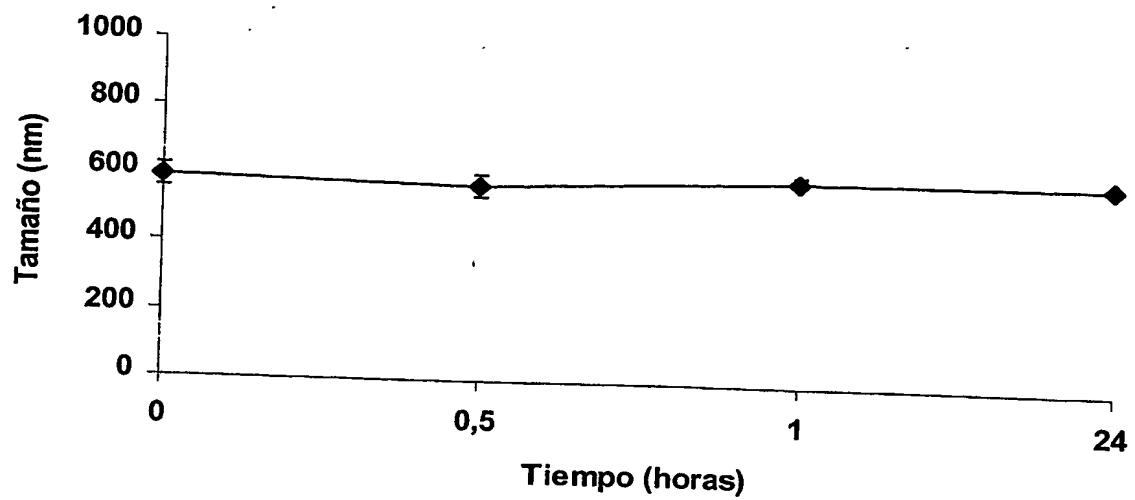


Figura 10:

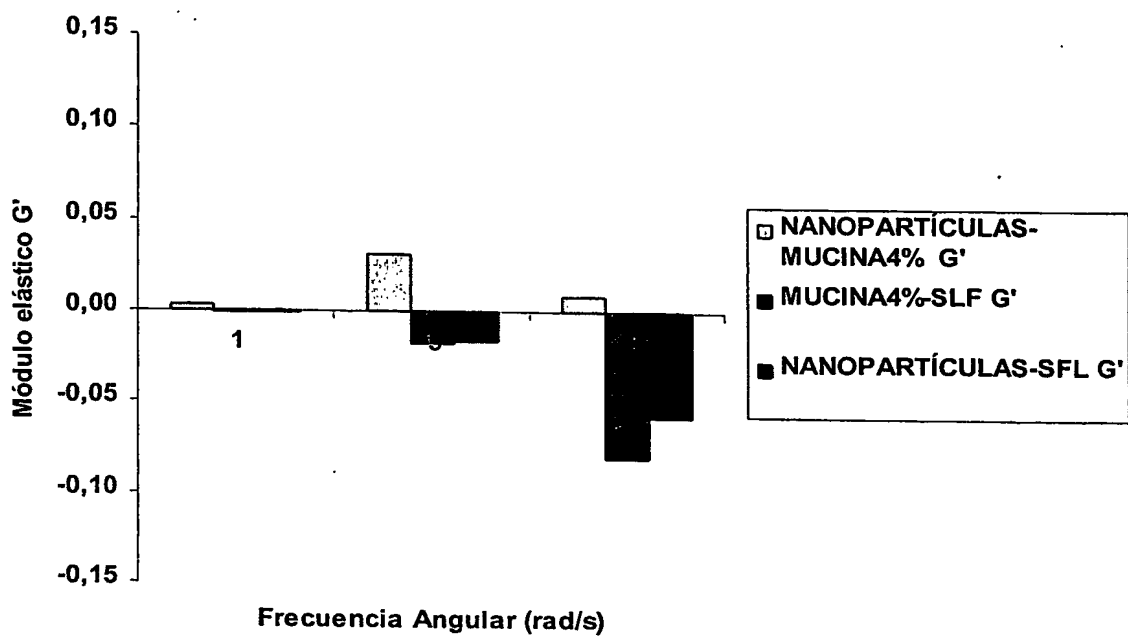
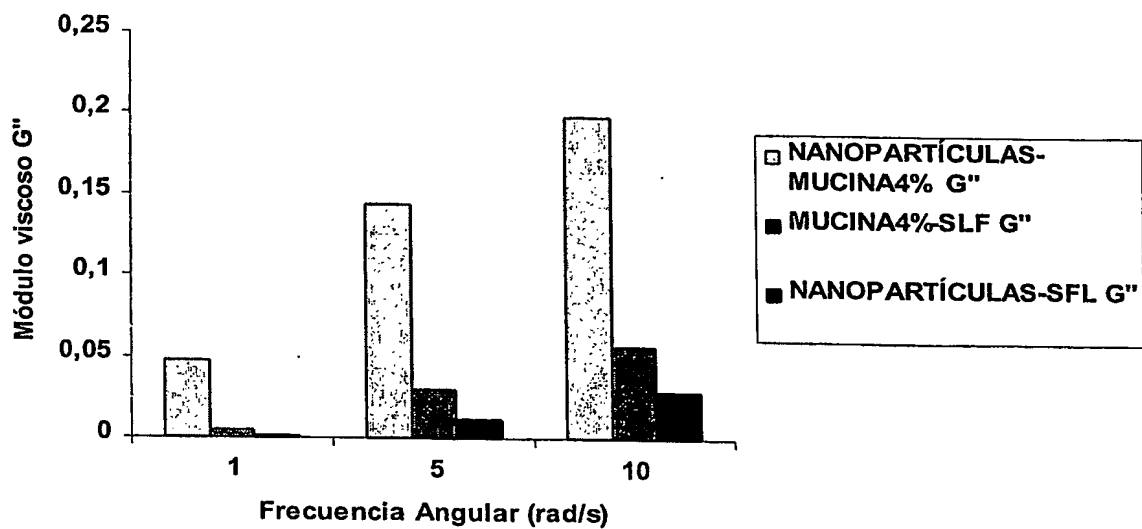


Figura 11:



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.